

## 比较教学法在仪器分析实验项目设计中的应用 ——以色谱实验教学为例

李璟明, 丁博文, 李楠\*, 努尔古丽

中国石油大学(北京)克拉玛依校区工学院, 新疆维吾尔自治区 克拉玛依 834000

**摘要:** 色谱分析是常用的现代仪器分析手段。高等院校仪器分析实验课程多将色谱分析列为主要教学内容之一。色谱分析包括气相色谱分析法和液相色谱分析法。气相色谱和液相色谱分析法具有相同点和不同点。基于比较教学法, 在仪器分析实验课程中, 分别使用气相色谱仪和液相色谱仪完成“苯、甲苯、间二甲苯的色谱分离”实验项目。在教学中, 对比气相色谱分析方法和液相色谱分析方法的原理、实验条件、操作方法、实验结果等, 从而加深学生对理论课中色谱章节内容的理解和学习, 同时也对学生以后的科研训练提供一定的帮助。

**关键词:** 仪器分析; 气相色谱; 液相色谱; 比较教学

**中图分类号:** G64; O6

## Application of Comparative Teaching Method in Experimental Project Design of Instrumental Analysis Course: A Case Study in Chromatography Experiment Teaching

Jingming Li, Bowen Ding, Nan Li\*, Nurgul

Faculty of Engineering, China University of Petroleum-Beijing at Karamay, Karamay 834000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China.

**Abstract:** Chromatographic analysis represents a prevalent technique within modern instrumental analysis. Chromatography, encompassing both gas and liquid chromatographic methods, is a fundamental component of instrumental analysis experiment course in higher education institutions. Despite their shared separation principles, gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC) exhibit distinct characteristics and applications. Leveraging the comparative teaching method, this study involves the execution of chromatographic separation of benzene, toluene and m-xylene using both GC and LC instruments within the framework of an instrumental analysis experimental course. This comparative approach facilitates a deeper understanding and appreciation of chromatographic techniques among students by elucidating the theoretical underpinnings, experimental conditions, operational methodologies, and outcomes associated with each method. Furthermore, this pedagogical strategy serves as a preparatory step for students' future research endeavors.

**Key Words:** Instrumental analysis; Gas chromatography; Liquid chromatography; Comparative teaching

仪器分析实验课程是高等院校化学、化学工程与工艺、能源化学工程等相关专业的基础课程, 大多包括理论课程和实验课程。在理论课上, 教授学生了解现代仪器分析技术的历史、发展及前沿趋

收稿: 2023-12-24; 录用: 2024-02-26; 网络发表: 2024-03-21

\*通讯作者, Email: linan@cupk.edu.cn

基金资助: 克拉玛依市创新环境建设计划(创新人才)项目(20232023hjcxrc0045); 中国石油大学(北京)克拉玛依校区教育改革项目(JG2023024)

势, 掌握常用的现代仪器分析测试方法的原理, 认识现代分析仪器的结构组成及使用方法; 在实验课上, 教授学生正确使用常用的现代分析仪器, 并掌握测试数据的分析方法。实验课程和理论课程相结合, 能达到更好的教学效果。仪器分析实验课程主要包括光谱、色谱、电化学等教学内容, 色谱教学章节包括气相色谱和液相色谱教学内容<sup>[1]</sup>。气相色谱和液相色谱均属于分离色谱, 基本分离原理相同, 都是利用待分离组分在流动相和固定相两相中的选择性差异而被流动相洗脱分离, 但两者在应用范围、仪器结构组成、分离操作条件等方面存在着不同点。然而, 学生在学习过程中, 存在着“割裂式”学习现象: 在学习气相色谱章节时能够掌握气相色谱内容, 在学习液相色谱章节时, 能够掌握液相色谱内容, 但不能把气相色谱和液相色谱的学习内容融会贯通。比如, 当讲授完气相色谱教学内容后, 再讲解液相色谱法分析苯、甲苯、间二甲苯同系物时, 向学生提问, 是否能用气相色谱分析苯、甲苯、间二甲苯同系物, 很多学生表现得很迷茫, 给出不能、不确定或不知道等答案。这说明学生在学习过程中没有注重比较、归纳、分析与总结, 同时, 也体现了比较教学法的重要性。比较教学法, 也称类比教学法, 是常用的教学方法之一, 指在教学活动中, 将两个或两个以上的对象放在一定的条件下, 按照同一标准进行对照比较, 以达到辨识、了解和把握认识对象之目的方法<sup>[2]</sup>。比较教学法以多种形式广泛应用于各个学科的教学设计<sup>[3-6]</sup>。江玉亮<sup>[6]</sup>尝试将比较教学法融入仪器分析实验教学课堂, 阐述了比较教学法在仪器分析实验中的多种可行性的应用, 例如, 比较相似工作原理不同仪器、相同类型仪器不同光路设计等。鉴于此, 基于比较教学法, 我们对仪器分析实验项目进行具体的设计, 在气相色谱实验、液相色谱实验中均要求学生完成“苯、甲苯、间二甲苯的色谱分离”, 在教学中, 对比气相色谱分析方法和液相色谱分析方法的原理、实验条件、操作方法、实验结果等, 使学生在实验课堂上学会使用气相色谱仪和液相色谱仪的同时, 能够更好地理解气相色谱、液相色谱的相同点和不同点, 理解色谱理论课的教学内容。

## 1 实验方案设计

以我校的仪器分析实验室为例, 实验室内共有4台气相色谱仪和4台液相色谱仪。每班学生分成8小组, 每3-4人一组, 每小组学生共用1台气相色谱仪和1台液相色谱仪。在实验课前, 以小组为单位完成课前任务; 在每节实验课上, 4组学生完成气相色谱实验, 另4组学生完成液相色谱实验; 气相色谱实验项目和液相色谱实验项目均为“苯、甲苯、间二甲苯的色谱分离与定量分析”; 在每节实验课后, 完成实验报告和课后任务。

### 1.1 课前任务

课前, 教师给学生发送实验项目名称, 列明实验室内可用的仪器及试剂, 要求学生自主查找与实验内容相同或类似的文献资料; 同时, 发送预设问题, 要求学生以小组为单位讨论和思考问题;

问题1: 气相色谱分析方法中, 影响混合组分分离的条件有哪些?

问题2: 液相色谱分析方法中, 影响混合组分分离的条件有哪些?

问题3: 气相色谱分析方法中, 如何设定柱温、前进样口温度、前检测器温度?

问题4: 液相色谱分析方法中, 如何设定流动相的比例?

问题5: 气相色谱分析方法中, 柱温对混合组分分离有什么影响?

问题6: 液相色谱分析方法中, 流动相的比例对混合组分分离有什么影响?

### 1.2 仪器与试剂

仪器: 气相色谱仪(普析通用G5, 北京普析通用仪器有限责任公司)、高效液相色谱仪(普析通用L600, 北京普析通用仪器有限责任公司)、OV101气相色谱柱(柱长30 m、内径0.32 mm)、C18液相色谱柱(柱长250 mm, 内径4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );

试剂: 苯(分析纯)、甲苯(分析纯)、间二甲苯(分析纯)、甲醇(色谱纯)分别购自于国药集团化学试剂有限公司、国药集团化学试剂有限公司、Damas-Beta公司、Fisher Chemical公司;

另在实验前由教师配制完成苯-甲苯-间二甲苯的混合溶液、苯-甲苯-间二甲苯的甲醇溶液、苯的

甲醇溶液、甲苯的甲醇溶液、间二甲苯的甲醇溶液，其中苯-甲苯-间二甲苯的混合溶液、苯-甲苯-间二甲苯的甲醇溶液中苯：甲苯：间二甲苯 = 1:1:1 (质量比)。

### 1.3 气相色谱实验内容

实验条件：

柱温：100、120、140 °C；柱压：0.1 MPa；汽化室温度：200 °C；检测器温度：250 °C；进样量：0.1 μL；检测器灵敏度：10<sup>7</sup>；

实验内容：

- 1) 测定纯物质：分别取苯、甲苯、间二甲苯纯溶液0.1 μL，分别在柱温100、120、140 °C下进样分析，测定出各色谱峰的保留时间；
- 2) 分析混合溶液：取苯-甲苯-间二甲苯混合溶液0.1 μL，分别在柱温100、120、140 °C下进样分析；
- 3) 用归一化定量方法计算混合溶液中各组分的质量分数；
- 4) 计算在各个柱温下混合物中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度。

### 1.4 液相色谱实验内容

实验条件：

- 1) 检测器：紫外吸收检测器，波长254 nm；柱温：40 °C；
- 2) 流动相配比：流动相为甲醇/水的混合液，其中甲醇/水的比例分别为：70/30、80/20、90/10；流动相流速：1 mL·min<sup>-1</sup>；

实验内容：

- 1) 测定纯物质：在甲醇/水配比为70/30、80/20、90/10下，分别取苯的甲醇溶液、甲苯的甲醇溶液、间二甲苯的甲醇溶液60 μL，进样分析，测定出各色谱峰的保留时间及峰面积；
- 2) 分析混合溶液：在甲醇/水配比为70/30、80/20、90/10下，取苯-甲苯-间二甲苯的甲醇溶液60 μL，进样分析；
- 3) 用归一化定量方法计算混合溶液中各组分的质量分数；
- 4) 计算在各个流动相配比下混合物中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度。

### 1.5 课后任务

课后，学生独立完成实验报告，并以小组为单位完成课后任务。课后任务包括气相色谱结果对比分析、液相色谱结果对比分析，以及根据实验课内容，对比分析气相色谱法和液相色谱法的相同点和不同点。课后任务以小组为单位提交一份报告。

## 2 结果与讨论

### 2.1 气相色谱结果对比分析

基于比较教学法，引导学生比较气相色谱在不同操作条件下的测试结果，理解气相色谱分析方法的影响因素；以下列出了部分实验数据，以便于示例说明。

根据实验结果，引导学生回答以下问题：

- ① 本实验中改变的操作条件是什么？
- ② 改变该操作条件是否改变各物质的出柱顺序？
- ③ 改变该操作条件对混合样品的分离有什么影响？
- ④ 改变该操作条件是否改变混合样品的定量分析结果？

在测定纯物质实验中，各纯物质的色谱峰的保留时间见表1。

在分析混合溶液实验中，得到混合物色谱峰数据，混合物有3个色谱峰，根据表1中各纯物质保留时间定性判断各色谱峰的归属，再用归一化定量分析方法计算混合物中各组成的含量，其中苯、甲苯、间二甲苯的校正因子均定为1。相关结果汇总见表2。

表1 各纯物质的气相色谱峰的保留时间

			苯	甲苯	间二甲苯				苯	甲苯	间二甲苯
柱温	100 °C	保留时间/min	1.299	1.528	1.966	柱温	140 °C	保留时间/min	1.21	1.298	1.445
	120 °C	保留时间/min	1.224	1.376	1.626						

表2 混合物中各物质的气相色谱峰数据及归一化定量分析结果

			苯	甲苯	间二甲苯
柱温	100 °C	保留时间/min	1.298	1.536	1.995
		峰面积/(mV*s)	9474.574	9722.59	9958.749
		峰宽/min	0.037	0.04	0.052
		质量分数/%	32.50	33.35	34.16
120 °C	保留时间/min	1.247	1.386	1.632	
	峰面积/(mV*s)	7459.621	7611.543	7729.941	
	峰宽/min	0.036	0.037	0.039	
	质量分数/%	32.72	33.38	33.90	
140 °C	保留时间/min	1.23	1.316	1.459	
	峰面积/(mV*s)	9096.041	9361.472	9671.153	
	峰宽/min	0.039	0.04	0.041	
	质量分数/%	32.34	33.28	34.38	

根据测得的数据，还可计算得到组分的分离度，结果见表3。

表3 在不同柱温下混合物中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度

柱温	分离度	
	苯/甲苯	甲苯/间二甲苯
100 °C	6.2	10.0
120 °C	3.8	6.5
140 °C	2.2	3.5

对以上结果进行比较分析，学生可以得到以下答案：

- ① 本实验中改变的操作条件是柱温；
- ② 根据表1，在柱温100、120、140 °C下，随着柱温的升高，苯、甲苯、间二甲苯保留时间有不同程度上的减小，但苯、甲苯、二甲苯的保留时间仍然是： $t_R(\text{苯}) < t_R(\text{甲苯}) < t_R(\text{间二甲苯})$ ，即纯物质的出柱顺序均为：苯、甲苯、间二甲苯，因此说明柱温不影响各纯物质的出柱顺序；
- ③ 根据表3，在100–140 °C范围内，随着柱温升高，混合样品中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度均随之下降；但随着柱温升高，分析检测所用时间缩短；柱温影响分离度和检测时间，检测分析时应选择适当的柱温；
- ④ 根据表2，在柱温100、120、140 °C下，定量分析结果基本保持一致，已知课前配制的混合样品浓度为：苯-甲苯-间二甲苯(33.3%-33.3%-33.3%)，气相色谱分析结果与实际含量非常接近，因此说明柱温不影响定量分析结果。

总结：在气相色谱分析方法中，柱温是影响混合组分分离的条件之一，在合适的柱温范围内，柱温不影响混合物各组分的出柱顺序及混合物定量分析结果，随着柱温的升高，混合样品中各组分的分离度下降，但混合样品分析检测时间缩短。

## 2.2 液相色谱结果对比分析

基于比较教学法，引导学生比较液相色谱在不同操作条件下的测试结果，理解液相色谱分析方法的影响因素；以下列出了部分实验数据，以便于示例说明。

根据实验结果，引导学生回答以下问题：

- ① 本实验中改变的操作条件是什么？
- ② 改变该操作条件是否改变各物质的出柱顺序？
- ③ 改变该操作条件对混合样品的分离有什么影响？
- ④ 改变该操作条件是否改变混合样品的定量分析结果？

各纯物质的色谱峰的保留时间及峰面积数据、以及计算得到的相对校正因子结果见表4。

表4 各纯物质的液相色谱峰的保留时间、峰面积及计算得到的相对校正因子

			苯	甲苯	间二甲苯
甲醇/水配比	90/10	保留时间/min	4.183	4.8	5.683
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	14546116	21055295	17316412
		相对校正因子	1	0.690853	0.840019
	80/20	保留时间/min	5.483	7.000	9.467
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	16066233	22880089	18707150
		相对校正因子	1	0.702193	0.858828
	70/30	保留时间/min	7.767	11.567	18.233
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	17394461	24835757	19977700
		相对校正因子	1	0.70038	0.870694

在分析混合溶液实验中，得到混合物色谱峰数据，混合物有3个色谱峰，根据表4中各纯物质的保留时间定性判断各色谱峰的归属，用归一化定量分析方法计算混合物中各组成的含量，其中相对校正因子数据来自表4。相关结果汇总见表5。

表5 混合物的液相色谱峰数据及归一化定量分析结果

			苯	甲苯	间二甲苯
甲醇/水配比	90/10	保留时间/min	4.2	4.817	5.7
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	14050112	21168555	17503167
		半峰宽/min	0.2	0.2	0.2
		相对校正因子	1	0.690853	0.840019
		质量分数/%	32.39	33.71	33.90
	80/20	保留时间/min	5.483	7.033	9.483
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	15547500	22708287	19249030
		半峰宽/min	0.267	0.267	0.3
		相对校正因子	1	0.702193	0.858828
		质量分数/%	32.37	33.20	34.42
	70/30	保留时间/min	7.883	11.683	18.35
		峰面积/( $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ )	16963367	24728801	20330407
		半峰宽/min	0.333	0.383	0.517
		相对校正因子	1	0.70038	0.870694
		质量分数/%	32.63	33.32	34.05

根据测得的数据, 还可计算得到组分的分离度, 结果见表6。

表6 在不同流动配比下混合物中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度

流动相甲醇/水配比	分离度	
	苯/甲苯	甲苯/二甲苯
70/30	6.3	8.7
80/20	3.4	5.1
90/10	1.8	2.6

对以上结果进行比较分析, 学生可以得到以下答案:

① 本实验中改变的操作条件是流动相配比;

② 根据表4, 在甲醇/水配比为70/30、80/20、90/10下, 随着流动相中甲醇比例升高, 苯、甲苯、二甲苯的保留时间有不同程度上的减小, 但苯、甲苯、二甲苯的保留时间仍是:  $t_R(\text{苯}) < t_R(\text{甲苯}) < t_R(\text{间二甲苯})$ , 即纯物质的出柱顺序均为: 苯、甲苯、间二甲苯, 因此说明流动相配比不影响各纯物质的出柱顺序;

③ 根据表6, 在所选流动相配比范围内(甲醇比例70%–90%), 随着甲醇比例升高, 混合样品中苯/甲苯、甲苯/间二甲苯的分离度随之下降, 但随着甲醇比例的升高, 分析检测所用时间缩短; 流动相配比影响分离度和检测时间, 检测分析时应选择适当的流动相配比;

④ 根据表5, 在所选流动相配比范围内, 定量分析结果基本保持一致, 已知课前配制的混合样品浓度为: 苯-甲苯-间二甲苯(33.3%-33.3%-33.3%), 液相色谱分析结果与实际含量非常接近, 因此说明流动相配比不影响定量分析结果。

总结: 在液相色谱分析方法中, 流动相配比是影响混合组分分离的条件之一, 在合适的流动相配比范围内, 流动相配比不影响混合物各组分的出柱顺序及混合物定量分析结果, 随着流动相中甲醇比例的升高, 混合样品中各组分的分离度下降, 但混合样品分析检测时间缩短。

### 2.3 气相色谱与液相色谱法对比分析

以上, 在纵向上对比分析了气相色谱、液相色谱分析法的实验结果, 接下来, 引导学生对气相色谱和液相色谱分析法进行比较、归纳、总结, 理解气相色谱和液相色谱的相同点和不同点; 具体地, 要求学生根据实验课上的学习内容, 将气相色谱和液相色谱的相同点和不同点汇总成表(见表7), 以方便对比学习。

表7从原理、仪器结构组成、分析对象、使用方法、操作条件、实验结果方面对比了气相色谱和液相色谱分析法。气相色谱法和液相色谱法均可以分析混合苯样品, 气相色谱法分析混合苯时, 混合苯不经稀释, 0.1  $\mu\text{L}$ 进样, 流动相 $\text{N}_2$ , 采用恒温分离即可分离, 柱温100  $^\circ\text{C}$  (或120、140  $^\circ\text{C}$ ), 样品在色谱柱中以气相存在; 液相色谱法分析混合苯时, 用甲醇进行稀释, 进样量60  $\mu\text{L}$ , 流动相是甲醇-水混合溶液, 采用等度洗脱即可分离, 流动相配比70/30 (或80/20、90/10), 样品在色谱柱中以液相存在; 气相色谱法和液相色谱法在诸多方面虽存在不同, 但测试结果一致, 分析结果准确(见表2和表5)。

基于比较教学法的实验教学可以辅助理论教学, 加深理论课内容的学习。比如, 对比洗脱方式, 这部分内容对应理论课内容中“色谱分析法的使用方法、操作条件”知识点。老师在理论课上讲授这部分内容时, 可以对此进行说明、解释, 告诉学生, 在实验课上, 气相色谱实验采用恒温分离, 液相色谱实验采用等度洗脱, 但恒温分离和等度洗脱并不是唯一的洗脱方式, 实际使用中, 为提升分离效果及缩短分离检测时间等, 气相色谱分析方法还可以采用程序升温方式进行分离, 液相色谱分析法还可采用梯度洗脱方式进行分离。

表7 气相色谱和液相色谱的相同点与不同点(基于本实验)

	气相色谱	液相色谱	对应理论课内容
原理	利用物质的沸点、极性、吸附性质的差异来实现混合物的分离	组分在两相间的吸附、分配、离子交换、亲和力或分子尺寸等性质存在差异	色谱分析原理
基本组成	气路系统、进样系统、分离系统、温控系统、检测及记录系统	高压输液系统、进样系统、分离系统、检测系统、记录系统	色谱仪的结构组成
色谱柱	毛细管柱, OV101	C18硅胶键合柱	
检测器	氢火焰离子化(FID)检测器	紫外吸收检测器	
分析物质	苯、甲苯、间二甲苯	苯的甲醇溶液、甲苯的甲醇溶液、间二甲苯的甲醇溶液、苯-甲苯-间二甲苯的甲醇溶液	色谱分析法的分析对象、使用方法、操作条件及分离影响因素
进样量	0.1 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$ (定量环体积: 20 $\mu\text{L}$ )	
洗脱方式	恒温分离	等度洗脱	
流动相	$\text{N}_2$	甲醇-水混合溶液	
操作条件	柱温 100、120、140 $^{\circ}\text{C}$	流动相配比 70/30、80/20、90/10	
实验结果 (见表1-6)	不同柱温下, 出柱顺序: 苯、甲苯、间二甲苯  柱温升高, 分离度下降  定量结果与实际一致	不同流动相配比下, 出柱顺序: 苯、甲苯、间二甲苯  流动相中甲醇比例增加, 分离度下降  定量结果与实际一致	色谱峰的定性与定量方法

### 3 结语

在仪器分析实验中, 分别使用气相色谱仪和液相色谱仪完成苯-甲苯-间二甲苯的色谱分离与定量分析。在实验中, 学生学会了多组分混合物的色谱分离、定性与定量分析, 研究了不同色谱分析条件对实验结果的影响, 且对比了气相色谱法和液相色谱法的定量分析结果, 测试结果一致。基于比较教学法的实验课程使得学生在对比分析中理解分析条件的重要性, 明白同一样品的定量分析等可以有不同的分析测试手段, 且只要选择适合的分析条件, 测试数据均是可靠准确的, 培养了学生的仪器分析检测能力。

### 参 考 文 献

- [1] 胡坪, 王氢. 仪器分析. 北京: 高等教育出版社, 2019: 5-107.
- [2] 李运模. 中南民族学院学报(人文社会科学版), **2000**, 20 (3), 125.
- [3] 李军昌, 王长海, 王文, 王宗仁, 李锋, 马静. 西北医学教育, **2007**, 15 (4), 736.
- [4] 薛冰纯, 吴雅琴, 刘二保. 化学教育, **2015**, 36 (10), 22.
- [5] 张亚冰, 侯小改, 乔琦, 孙会忠, 薛娴, 段春燕. 安徽农业科学, **2010**, 38 (6), 3269.
- [6] 江玉亮, 毕文韬, 杜江燕, 杨静. 大学化学, **2020**, 35 (2), 27.